



68

JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

63295589

DERIVATIVE OF PHYSIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCE K-252

Patent Number: JP63295589

Publication date: 1988-12-01

Inventor(s): HIRATA TADASHI; others: 01

Applicant(s): KYOWA HAKKO KOGYO CO LTD

Application Number: JP19870327859 19871224

Priority Number(s):

IPC Classification: C07D498/18

EC Classification:

Abstract

NEW MATERIAL: A compound expressed by formula I {R<1> and R<2> are H, bromine or nitro; R<3> is H, lower alkyl, aralkyl or -(CH₂)_nZ [Z is OH or formula II (R<4> and R<5> are H, lower alkyl, etc.), etc.]; X is carboxyl, lower alkoxy carbonyl, carbamoyl, hydroxymethyl, etc.; Y is OH, lower alkoxy or aralkyloxy, provided that X and Y together represent formula III or IV} and salt thereof.

USE: A antiallergic agent, antithrombotic agent, anti-inflammatory agent, antitumor agent, etc., having powerful inhibitory activity against C-kinase.

PREPARATION: A raw material compound expressed by formula V, such as a physiologically active substance K-252, is reacted with an oxidizing agent (e.g. Collins' reagent consisting of chromic acid dipyridine complex) in an amount of 5-7 equiv. based on the above-mentioned compound in pyridine solvent at 0 deg.C - room temperature for 1 day.

BEST AVAILABLE COPY

⑯ 公開特許公報 (A)

昭63-295589

⑤Int.Cl.
C 07 D 498/18識別記号
8615-4C※

⑬公開 昭和63年(1988)12月1日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全21頁)

④発明の名称 生理活性物質K-252の誘導体

⑯特 願 昭62-327859

⑯出 願 昭62(1987)12月24日

優先権主張 ⑯昭62(1987)1月22日⑬日本(JP)⑯特願 昭62-12720

⑯発明者 平田 正 神奈川県横浜市緑区奈良町1566-315

⑯発明者 持田 領一 神奈川県平塚市真田325-5

⑯発明者 村形 力 東京都町田市成瀬台2-32-3

⑯発明者 高橋 充 神奈川県川崎市多摩区三田3-2-6-204

⑯発明者 加瀬 広 東京都小金井市前原町3-35-18

⑯発明者 山田 耕二 東京都町田市旭町1-12-2

⑯発明者 岩橋 和幸 東京都町田市玉川学園1-22-16

⑯発明者 佐藤 章 東京都町田市木曾町1880-30

⑯出願人 協和酵素工業株式会社 東京都千代田区大手町1丁目6番1号

最終頁に続く

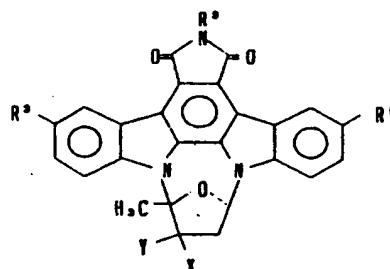
明細書

1. 発明の名称

生理活性物質K-252の誘導体

2. 特許請求の範囲

式



(式中、R' および R'' は同一または異なって水素、臭素またはニトロを表わし、R' は水素、低級アルキル、アラルキルまたは $-(CH_2)_n$ 。Z [式中、Z はヒドロキシ、 $-NH_2$ (式中、R' および R'' は同一または異なって水素、低級アルキルまたは隣接する窒素原子と共に複素環を形成する基を表わす) または $-N=CH-NH-$ (を表わし、n は 0、1 または 2 を表わす) を表わし、X はカルボキシル、低級アルコキシカルボニル、カルバモイ

ル、低級アルキルアミノカルボニル、ヒドロキシメチルまたは置換もしくは非置換アミノメチルを表わし、ここで置換基としては、アミノ酸のカルボキシル基よりヒドロキシ基を除いたアシル基を意味し、Y はヒドロキシ、低級アルコキシまたはアラルキルオキシであるか、または X と Y が一体となって $-I-I-$ として

$-O-C(CH_3)_3-O-CH_3$ または $-O-C(=O)-O-CH_3$ —

である) で表わされる K-252 誘導体およびその薬理的に許容される塩。

3. 発明の詳細な説明

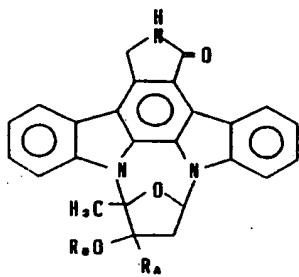
産業上の利用分野

本発明はプロテインキナーゼ C (以下 C-キナーゼという) を阻害し、種々な薬理作用を有する新規化合物に関する。

従来の技術

C-キナーゼはフォスフォリビドおよびカルシウムに依存して活性化されるタンパク質リン酸化酵素であり、広く生体内の組織や臓器に分布している。近年、本酵素は多くのホルモンや神経伝達物質などの細胞膜受容伝達機構において、極めて重要な役割を果たしていることが知られるよう

なった。そのようなC-キナーゼが関与する情報伝達機構により惹起される生理的反応の例として、血小板におけるセロトニン放出、リソゾーム酵素遊離および凝聚反応、肝中球のスーパーオキシド生成やリソゾーム酵素の遊離、副腎髓質からのエピネフリン遊離、腎糸球体からのアルドステロン分泌、ランゲルハンス島からのインシュリン分泌、マスト細胞からのヒスタミン遊離、回腸からのアセチルコリン遊離、血管平滑筋の収縮等が報告されている。さらに、C-キナーゼは細胞増殖や発ガン機構にも関与していると考えられている〔参考文献: T. Nishizuka, *Science*, 225, 1365 (1984); H. Rasmussen et al., *Advance in Cyclic Nucleotide and Protein Phosphorylation Research*, Vol. 18, P159, edited by P. Greengard and G. A. Robison, Raven Press, New York, 1984〕。このようにC-キナーゼは生体内の多くの重要な生理反応や各種病態に係わることが明らかになってきた。従って、C-キナーゼ活性をその特異的阻害剤等を用いることにより人为的に抑制することができれば、広く循環器系の疾病や、炎症、アレルギー、腫瘍などの予防、治療が可能になると考えられる。



K-252 : $R_1 = CO_2CH_3$, $R_2 = H$
KT-5556 : $R_1 = CO_2H$, $R_2 = H$

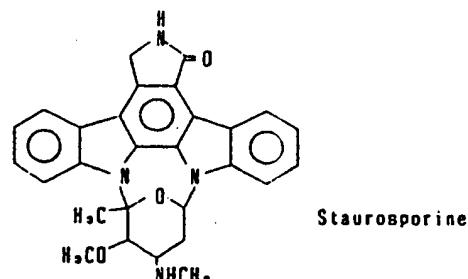
特開昭60-41489にはK-252が抗ヒスタミン遊離作用、抗アレルギー作用を有することが、特開昭62-155284、同62-155285にはK-252誘導体がC-キナーゼ抑制活性および抗ヒスタミン遊離作用を有することが記載されている。また、特開昭61-176531にはKT-5556が抗ヒスタミン遊離作用を有することが記載されている。また、K-252、KT-5556と同一化合物と推定される化合物が抗腫瘍物質として報告されている〔M. Senzaki et al., *J. Antibiotics*, 38, 1437 (1985)〕。この文献には上式で $R_1 = CO_2CH_3$, $R_2 = COCH_3$ の化合物も開示されている。このK-252と同一化合物と推定される化合物およびそのハロゲン

一方、トリフルオベラジン、クロロプロマジン等の抗精神病薬剤、局所麻酔薬として知られるジベナミンやテトラカイン、あるいはカルモジリジン阻害剤W-7 [$N-(6-azinohexyl)-5-chloro-1-naphthalenesulfonamide$] 等の薬剤にC-キナーゼ抑制活性があることが見出されているが、いずれもそのC-キナーゼ抑制作用は各薬剤の主作用ではなく特異性は低く、また抑制活性も低い〔Y. Nishizuka et al., *J. Biol. Chem.*, 255, 8378 (1980); R. C. Schatzman et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 98, 669 (1981); B. C. Wise et al., *J. Biol. Chem.*, 257, 8489 (1982)〕。

一方、次式で表されるK-252、KT-5556およびR₁、R₂部位を修飾したK-252誘導体が知られている (K-252について特開昭60-41489、米国特許第455402号、KT-5556について特開昭61-176531、K-252誘導体について特開昭62-155284、同62-155285)。

誘導体が特開昭62-120388、同62-164626に、またR₁を修飾した誘導体が特開昭62-240689に、いずれも血圧降下作用および利尿作用を有することが記載されている。

さらにK-252の構造に比較的近い構造を有する化合物として以下の構造を有し、抗菌作用を有するスタウロスボリン (Staurosporine) が知られている [S. Omura et al., *J. Antibiotics*, 30, 275 (1977); A. Furusaki et al., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 800 (1981); 特開昭60-185719]。



発明が解決しようとする問題点

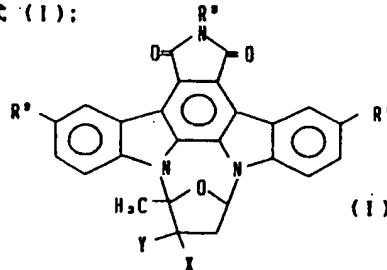
強いC-キナーゼ阻害活性を有し抗アレルギー剤、抗血栓剤、抗炎症剤あるいは抗腫瘍剤等の新しい活性成分は常に求められている。

問題点を解決するための手段

本発明によれば式 (I) で表わされるK-252

の新規な誘導体および薬理的に許容されるその塩が提供される。

式 (I):



(I)

(式中、R' および R'' は同一または異なって水素、臭素またはニトロを表わし、R'' は水素、低級アルキル、アラルキルまたは $-(CH_2)_n$ 。Z (式中、Z はヒドロキシ、 $-N<^{R''}_{R'}$ (式中、R' および R'' は同一または異なって水素、低級アルキルまたは隣接する窒素原子と共に複素環を形成する基を表わす) または $-N=CH-N<^{CH_3}_{CH_3}$ を表わし、n は 0、1 または 2 を表わす) を表わし、X はカルボキシル、低級アルコキシカルボニル、カルバモイル、低級アルキルアミノカルボニル、ヒドロキシメチルまたは置換もしくは非置換アミノメチルを表わし、ここで置換基としては、アミノ酸のカルボキシル基よりヒドロキシ基を除いたアシル基を

ペラジン等があげられる。

X の定義中、低級アルコキシカルボニルは炭素数 2~7 の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシカルボニル、例えばメトキシカルボニル、エトキシカルボニル、n-ブロボキシカルボニル、i-ブロボキシカルボニル、n-ブロトキシカルボニル、n-ヘキシルオキシカルボニル等を包含する。X の定義中、低級アルキルアミノカルボニルは炭素数 2~4 の直鎖状もしくは分枝状のアルキルアミノカルボニル、すなわちメチルアミノカルボニル、エチルアミノカルボニル、n-ブロビルアミノカルボニル、i-ブロビルアミノカルボニルを包含する。X の定義中、置換アミノメチルの置換基におけるアミノ酸としては、グリシン、アラニン、バリン、プロリン等が挙げられ、該アミノ酸のアミノ基はペプチド化学で常用される保護基 (例えばベンジルオキシカルボニル、n-ブロトキシカルボニル等) で保護されていてもよい。

Y の定義中、低級アルコキシは炭素数 1~3 の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシ、すなわちメトキシ、エトキシ、n-ブロボキシ、i-ブロボキシを包含する。Y の定義中、アラルキルオキシにいうアラルキルは R'' の定義におけると同様で

意味し、Y はヒドロキシ、低級アルコキシまたはアラルキルオキシであるか、または X と Y が一体となって $-Y-X-$ として

$-O-C(CH_3)_2-O-CH_3-$ または $-O-C(=O)-CH_2-$

である]。

以下、式 (I) で表される化合物を化合物 (I) という。他の式番号の化合物についても同様である。化合物 (I) は優れた C-キナーゼ抑制活性を有すると共に、優れた抗ヒスタミン遊離抑制活性、血小板凝集抑制活性、抗炎症活性あるいは細胞生育阻害活性も併有する。

式 (I) の R'', R' および R'' の定義中、低級アルキルは炭素数 1~3 の直鎖状もしくは分枝状のアルキル、すなわちメチル、エチル、n-ブロビル、i-ブロビルを包含する。R'' の定義中、アラルキルはアリール部がフェニル、ナフチル等で、アルキル部が炭素数 1~3 の直鎖状もしくは分枝状のアルキレン、例えばメチレン、エチレン等であるものを意味し、好適なものとしてベンジルがあげられる。R'' および R' で形成される複素環としては、ピロリジン、ピペリジン、N-メチルピペラジン、ホルモリン、N-メチルホモビ

ペラジン等があげられる。

化合物 (I) が塩基性化合物の場合には酸付加塩を形成させることができる。化合物 (I) の酸付加塩としては塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩、ギ酸塩、酢酸塩、安息香酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、シュウ酸塩、メタンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩、アスパラギン酸塩、グルタミン酸塩等があげられる。非毒性の薬理的に許容される塩、例えば上記に列挙の酸付加塩が好ましいが、生成物の草薙、精製にあたってはその他の塩もまた有用である。

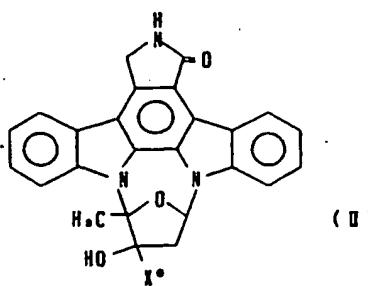
本発明による化合物は、光学活性である K-252 より通常立体保持の反応で得られるものであるが、すべての可能な立体異性体およびそれらの混合物も本発明に包含される。

次に化合物 (I) の製造方法について説明する。しかし、化合物 (I) の製造方法は、それらに限定されるものではない。

化合物 (I) は、K-252 およびこれより導かれる次の式 (II) ～ (IV)

実施することができる（例えば実施例7および16等参照）。

方法1：環状イミド化合物(Ⅰ)の合成



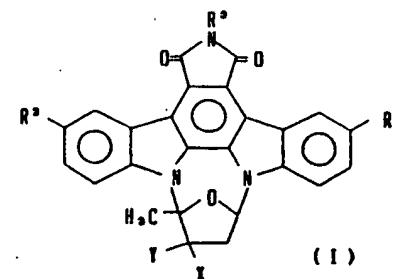
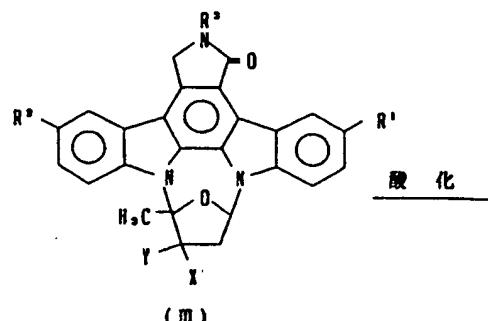
(IIa) ($X^{\circ} = COOH$)

(IIb) ($X^{\circ} = CH_2OH$)

(IIc) ($X^{\circ} = CH_2NH_2$)

で表わされる化合物より種々の合成手段により製造される。なお、化合物(IIa)は特開昭61-176531に、化合物(IIb)および(IIc)は特開昭62-155285にそれぞれ開示されている。

なお、以下に示した製造方法において、定義した基が実施方法の条件下変化するかまたは方法を実施するのに不適切な場合、有機合成化学で常用される方法、例えば官能基の保護、脱保護等の手段【例えば、プロテクティブ・グループ・イン・オーガニック・シンセシス、グリーン着、ジョン・ウィリー・アンド・サンズ・インコーポレイテッド(1981年)参照】に付すことにより容易に



(式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 X および Y は前記と同様である)。

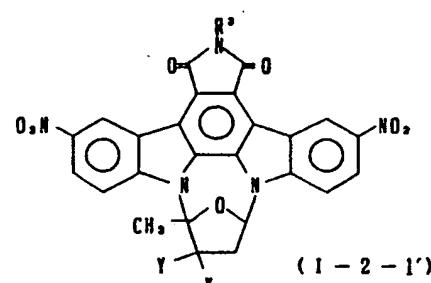
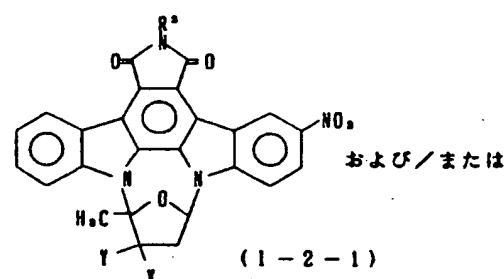
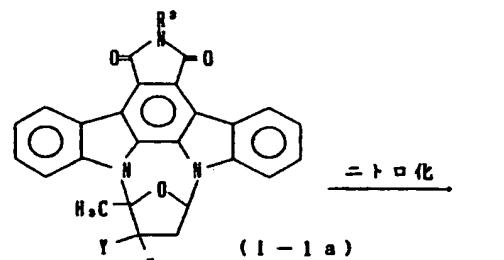
化合物(Ⅰ)はラクタム体(Ⅲ)に適当な酸化

剤、例えばコリンズ(Collins)試薬(クロム酸ジピリジンコンプレックス)をピリジン溶媒中、0℃～室温の範囲内で1日反応させることにより得ることができる。酸化剤は化合物(Ⅲ)に対し5～7当量用いる。

該反応において、 X 、 Y あるいは R^1 等が酸化反応に対し不適切な官能基の場合、前述した官能基の保護、酸化次いで脱保護の手段が適宜実施される(例えば実施例7参照)。

また、ここに得られる化合物(Ⅰ)は、これを合成中間体として、以降に記述する方法2～6等によりさらに新規K-252誘導体へと導かれる。
方法2： R^1 および/または R^3 に官能基を有する化合物(Ⅰ-2)の合成

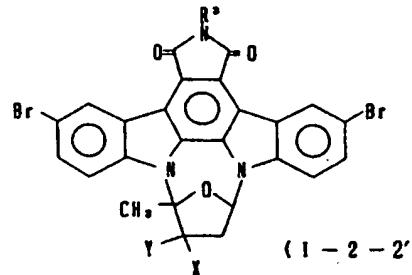
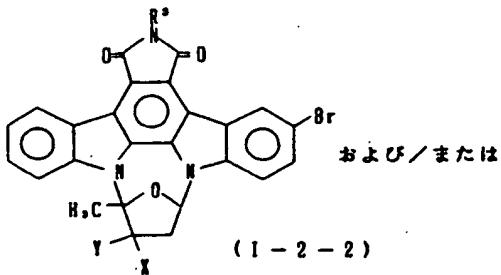
2-1： R^1 および/または R^3 がニトロの化合物(Ⅰ-2-1)および/または(Ⅰ-2-1')



(式中、X、YおよびR'は前記と同様である)

反応は化合物(I-1a)【化合物(I)におけるR'およびR'が水素である化合物】と適当なニトロ化剤、例えばテトラフルオロニトロニウムを反応に不活性な溶媒中反応させることにより目的物(I-2-1)および/または(I-2-1')を得ることができる。ニトロ化剤は1~1.1当量用いられる。不活性溶媒としては、スルホラン、アセトニトリル等が用いられる。反応は室温~80℃の範囲内で行われ1~2時間で終了する。

2-2 : R'および/またはR'が臭素の化合物(I-2-2)および/または(I-2-2')

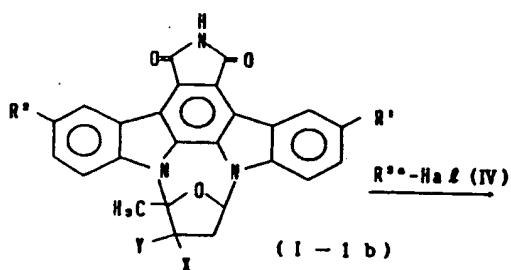


(式中、X、YおよびR'は前記と同様である)
反応は化合物(I-a)に、2~3当量の臭素をピリジン溶媒中室温下1時間~1日反応させることにより目的物(I-2-2)および/または(I-2-2')を得ることができる。

方法3 : R'に官能基を有する化合物(I-3)の合成

3-1 : R'がアルキル、アラルキルの化合物

(I-3-1)

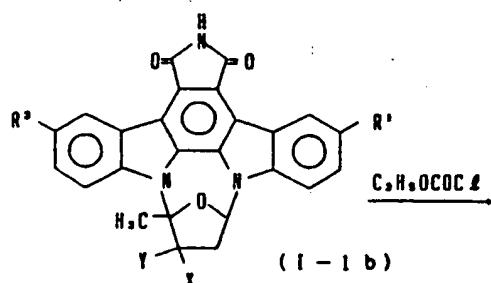


おいてR'が水素である化合物】とハライド(IV)とを反応に不活性溶媒例えばジメチルホルムアミド(DMF)中、塩基の存在下反応させることにより化合物(I-3-1)を得ることができる。反応は通常0°~室温で1~12時間で終了する。

ハライドは反応性に富むヨウ化物または臭化物が好ましく、化合物(I-3-1)に対し通常1~2当量用いる。塩基は水素化ナトリウム、カリウムヒーピトキシド等を包含し、副反応を抑えるために化合物(I-3-1)に対し1~1.5当量用いるのが好ましい。

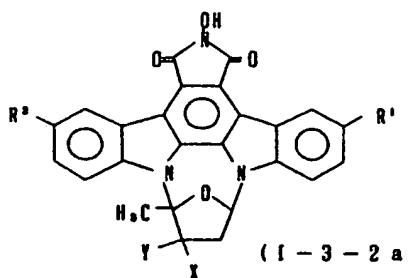
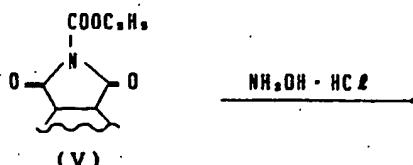
3-2 : R'が-(CH₂)_nZ中n=0の化合物(I-3-2)

3-2a : Z(R')がOHの化合物(I-3-2a)



(式中、X、Y、R'およびR'は前記と同様であり、R''はR'の定義中、低級アルキルおよびアラルキルを意味し、Haloはハロゲンを表わす)

反応は化合物(I-1b)【化合物(I)に

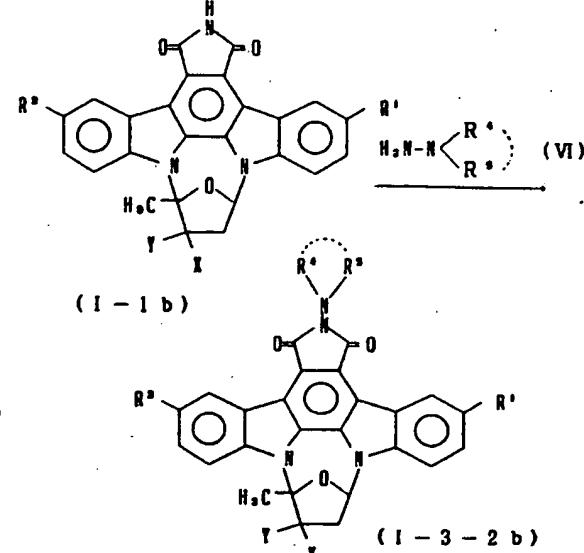


(式中、X、Y、R' およびR'' は前記と同様である)

反応は化合物 (I-1b) とクロロギ酸エチルを適当な塩基、例えば水素化ナトリウムの存在下反応に不活性な溶媒、例えばテトラヒドロフラン (THF) 中反応させることにより化合物 (V) を得ることができる。化合物 (I-1b) に対しクロロギ酸エチルは1~2当量、塩基は1~1.5当量用いられる。反応は通常0°~室温で1時間~1日で終了する。次いで、化合物

ヒドロキシルアミン塩酸塩を適当な塩基、例えばトリエチルアミンの存在下反応に不活性な溶媒、例えばDMP中反応させることにより化合物 (I-3-2a) を得ることができる。化合物 (V) に対してヒドロキシルアミン塩酸塩および塩基は5~10当量用いられる。反応は0°~室温で1時間~1日で終了する。

3-2b : Z (R'') が $N\begin{smallmatrix} R' \\ | \\ R'' \end{smallmatrix}$ の化合物 (I-3-2b)

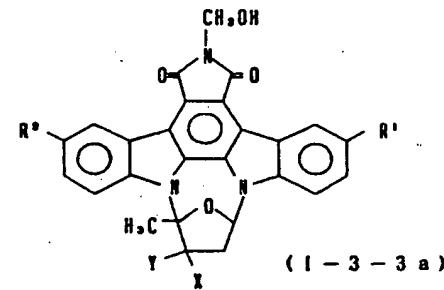


(式中、X、Y、R'、R''、R' およびR'' は前記と同様である)

反応は化合物 (I-1b) とヒドラジン類 (VI) の10~50当量を不活性溶媒中、70~110°Cで4~10時間反応させることにより化合物 (I-3-2b) を得る。適当な塩基、例えば1,8-ジアザビシクロ[4.1.0]ヘpta-2,4-dien-7-ene (DBU) 等を用いると、より速やかに反応は進行する。不活性溶媒はジオキサン、DMP等を包含する。

3-3 : R' が $-(CH_2)_n$ 、Z 中 $n=1$ の化合物 (I-3-3)

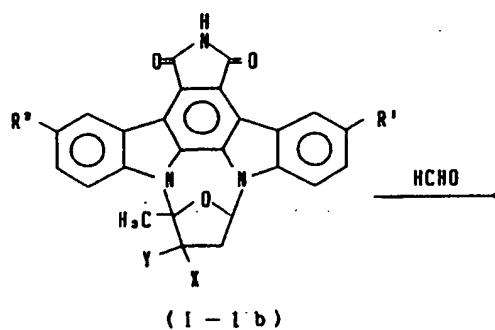
3-3a : Z が OH の化合物 (I-3-3a)

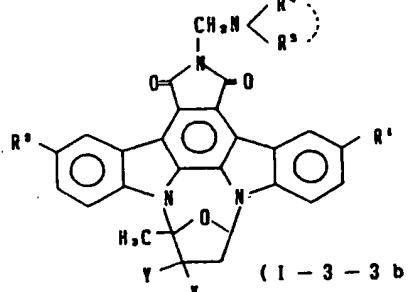
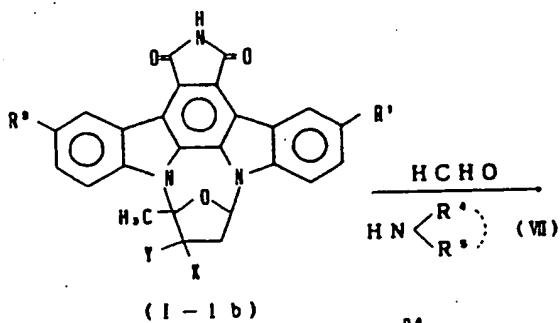


(式中、X、Y、R' およびR'' は前記と同様である)

反応は化合物 (I-1b) と35%ホルムアルデヒド水溶液あるいはパラホルムアルデヒド等とを不活性溶媒、例えばDMP中反応させることにより化合物 (I-3-3a) を得ることができる。ホルムアルデヒド類は化合物 (I-1b) に対し3~5当量用いられる。反応は通常50~100°Cで行われ1~12時間で終了する。

3-3b : Z が $N\begin{smallmatrix} R' \\ | \\ R'' \end{smallmatrix}$ の化合物 (I-3-3b)





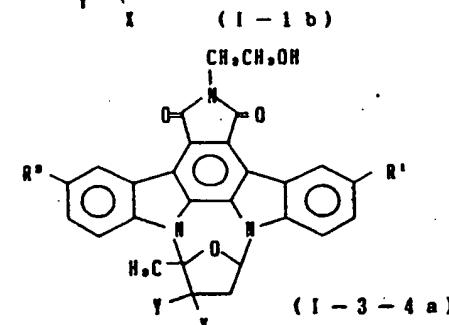
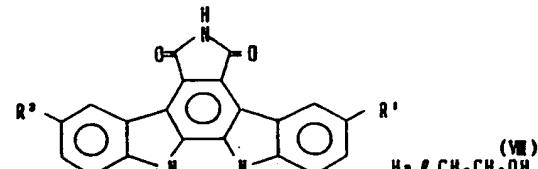
(式中、X, Y, R¹, R², R⁴ および R⁵ は前記と同様である)

反応は化合物 (I-1b) と 3.5% ホルムアルデヒド水溶液あるいはパラホルムアルデヒド等とをアミン類 (VII) の共存下に不活性雰囲、例えば DMP 中反応させることにより化合物

(I-3-3b) を得ることができる。ホルムアルデヒド類および化合物 (VII) は化合物 (I-1b) に対し 3~5 当量用いられる。反応は通常 70~100°C で行われ 1 日~1 週間で終了する。

3-4: R⁴ が $-(\text{CH}_2)_n$, 2 中 n = 2 の化合物 (I-3-4)

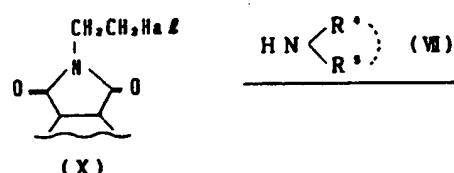
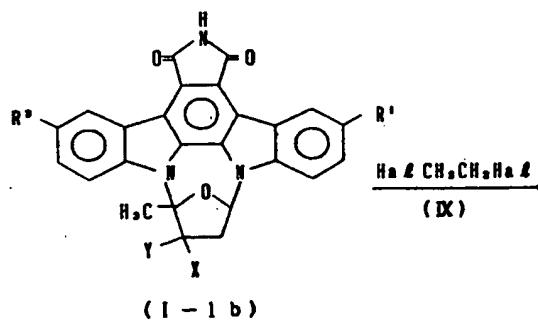
3-4a: Z が OH の化合物 (I-3-4a)



(式中、X, Y, R¹, R² および H₂は前記と同様である)

化合物 (I-1b) とハライド (VIII) とを前記した方法 3-1 と同様のアルキル化の条件下に反応させることにより化合物 (I-3-4b) が得られる。

3-4b: Z が $\text{N} \begin{smallmatrix} \text{R}^4 \\ \text{R}^5 \end{smallmatrix}$ の化合物 (I-3-4b)



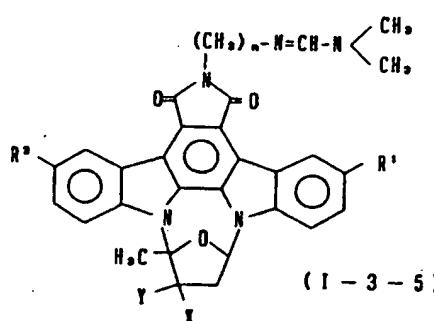
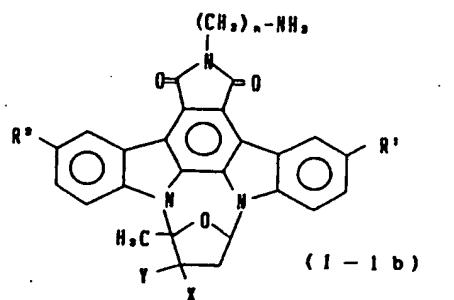
(式中、X, Y, R¹, R², R⁴, R⁵ および H₂は前記と同様である)

まず化合物 (I-1b) とハライド (IX) とを前記した方法 3-1 と同様のアルキル化の条件下に反応させることにより化合物 (X) が得られる。

次いで、化合物 (X) を DMP 溶液中適当な塩基、例えば DBU の 1.5~2.0 当量存在下、アミン (VII) の 1.0~1.5 当量と反応させることにより化合物 (I-3-4b) を得ることができる。反応は通常室温下 1 日で終了する。

3-5: R⁴ が $-(\text{CH}_2)_n$, $\text{N}=\text{CH}-\text{N} \begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_2 \end{smallmatrix}$ の化合物

(I-3-5)



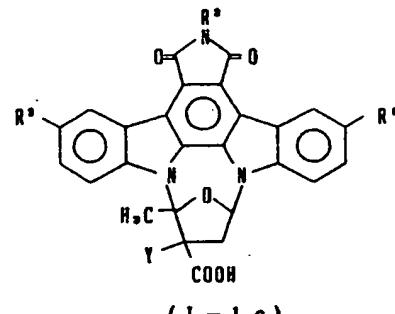
(式中、X、Y、R¹、R² およびnは前記と同様である)

化合物 (I-3-b) [化合物 (I-3-2-b)、

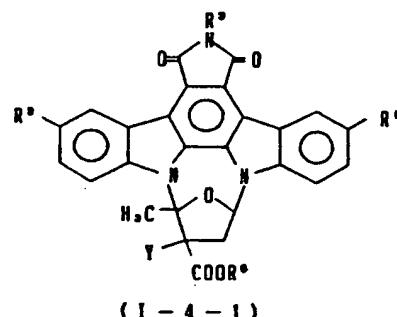
(I-3-3-b) および (I-3-4-b) において、R¹ およびR² が水素である化合物] と N,N-ジメチルホルムアミドジメチルアセタールとを不活性溶媒、例えばDMF 中反応させることにより化合物 (I-3-5) を得ることができる。N,N-ジメチルホルムアミドジメチルアセタールは化合物 (I-3-b) に対し1~10当量用いられる。反応は通常0℃~室温で行われ1~2週間で終了する。

方法4 : Xを修飾した化合物 (I-4) の合成

4-1 : Xが低級アルコキシカルボニルの化合物 (I-4-1)



SOC₂ / RⁿOH (X I)



(式中、Y、R¹、R² およびRⁿは前記と同様でありRⁿは低級アルキルを表す)

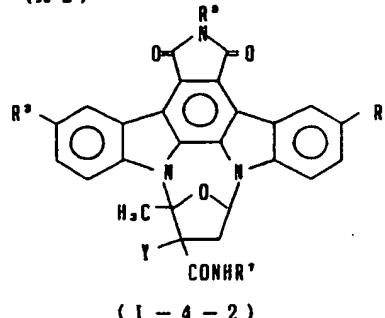
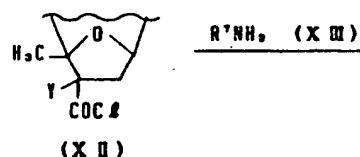
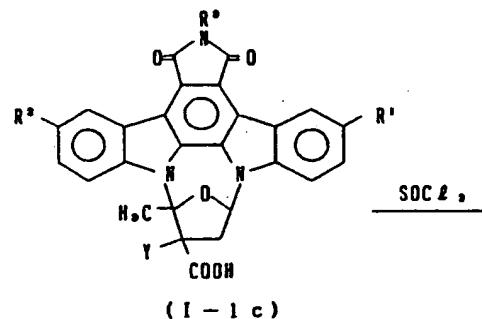
ここでRⁿは炭素数1~6の直鎖または分枝状のアルキルを意味する。

化合物 (I-1c) [化合物 (I) 中、Xがカルボキシルである化合物] に、アルコール (X I) および過剰の塩化チオニルを加え、加熱還流することにより化合物 (I-4-1) を得ることができる。

塩化チオニルは、溶媒をかねて用いるアルコールの10分の1程度(体積比)の量が通常用いられる。反応は80~100℃の範囲で行われ、1時間~1日では終了する。

4-2 : Xがカルバモイルおよび低級アルキル

アミノカルボニルの化合物 (I-4-2)

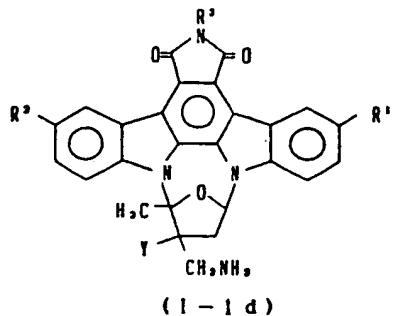


(式中、Y、R¹、R² およびR³ は前記と同様であり、R¹ は水素または低級アルキルを表わす)

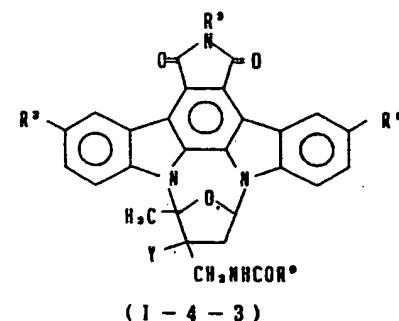
ここでR¹ の定義中、低級アルキルは炭素数1～3の直鎖または分枝状のアルキルを意味する。

化合物(I-1c)を塩化チオニル中加熱還流して、酸クロリド(XII)を得る。ついで化合物(XII)をアミン(XIII)と反応させることにより、化合物(I-4-2)を得ることができる。アミン成分は通常、化合物(XII)に対し等量～過剰、通常1～5当量用い、反応溶媒として無水クロロホルム、ジクロルメタン等が用いられる。反応は通常室温で行われ、1～12時間で終了する。

4-3 : Xが置換アミノチメルの化合物(I-4-3)



i) N-保護アミノ酸(XIV)/DCC
ii) 脱保護



(式中、Y、R¹、R² およびR³ は前記と同様であり、R¹ はアミノ酸のカルボキシル基からヒドロキシ基を除いた部分を表わし、該アミノ酸のアミノ基は遊離または保護されていてよい)

ここで、アミノ酸のN-保護基としては通常ペプチド化学で常用される、例えばベンジルオキシカルボニル、ヒープトキシカルボニル等があげられる。

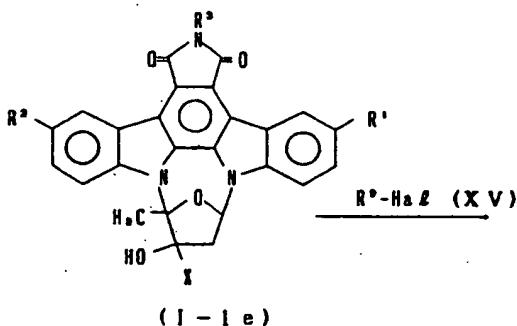
化合物(I-1d)【化合物(I)においてXがアミノメチルである化合物】とN-保護されたアミノ酸(XIV)とをTHF溶媒中、N-オキシコハク酸イミドおよびジシクロヘキシカルボジイミド(DCC)を用いて縮合することにより化合物(I-4-3)を得ることができる。化合物(I-1d)に対し、化合物(XIV)は1～2当量、N-オキシコハク酸イミドは1当量、DCCは1～2当量用いられる。反応は通常0℃～室温で行われ1時間～1日で終了する。

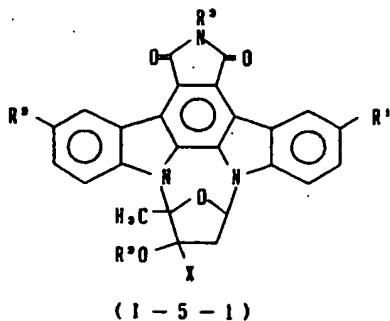
なお、遊離のアミノ基を有する化合物(I-4-3a)を所望の場合は、常法により脱保護すればよい。例えば保護基がベンジルオキシカ

ルボニルの場合、例えば接触還元法により還元することにより化合物(I-4-3a)を得ることができる。触媒は5～10%パラジウム炭素等を包含し通常化合物(I-4-3)の重量に対し0.1～0.5倍重量用いる。不活性溶媒はTHF、DMF等を包含する。反応は通常室温で行い、1時間～1日で終了する(実施例19等参照)。

方法5 : Yを修飾した化合物(I-5)の合成

5-1 : Yが低級アルコキシまたはアラルオキシである化合物(I-5-1)





(式中、X、R¹、R²、R³およびR⁴は前記と同様であり、R⁵は前記R⁶と同様である)

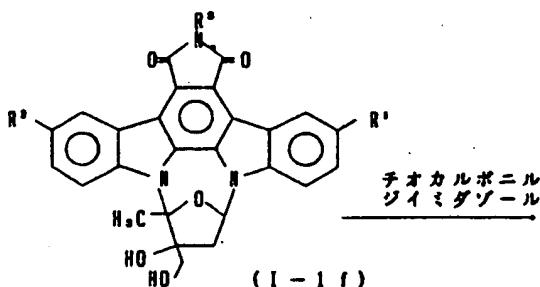
化合物(I-1e)【化合物(I)中Yがヒドロキシである化合物】とハライド(XV)とを反応に不活性な溶媒中、塩基の存在下反応させることにより化合物(I-5-1)を得ることができる。

ハライドは反応性に富むヨウ化物または臭化物が好ましく、化合物(I-1e)に対し通常1~2当量用いる。塩基は水素化ナトリウム、カリウムヒーブトキシド等を包含し、副反応を抑えるために化合物(I-1e)に対し1当量以内、特に0.9~1当量用いるのが好ましい。

(式中、R¹、R²およびR³は前記と同様である)

化合物(I-1f)【化合物(I)において、XがヒドロキシメチルでYがヒドロキシである化合物】と5当量の2,2-ジメトキシプロパンとをクロロホルム溶媒中、適当な酸触媒、たとえばカンファースルホン酸【化合物(I-1f)に対し0.1~0.5当量】の存在下で加熱還流下1~1.2時間反応させることにより、化合物(I-6-1)を得ることができる。

6-2 : -Y-X- が -O-C(=O)-O-CH₂- の化合物(I-6-2)

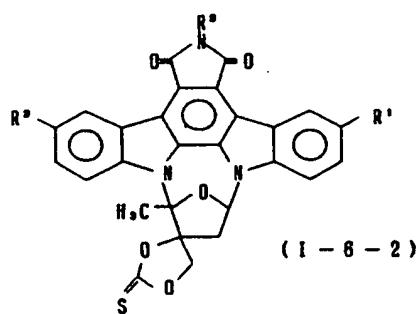
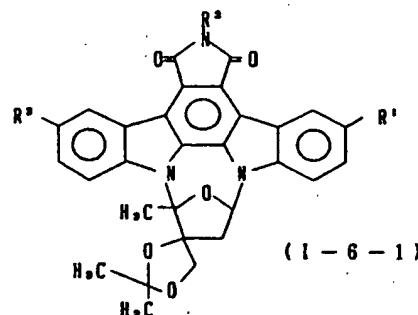
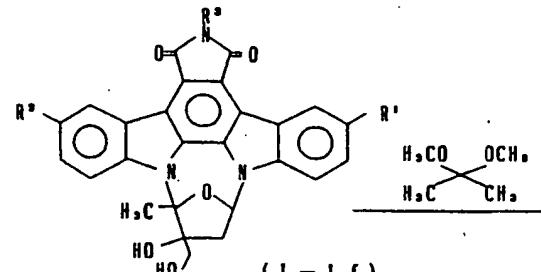


不活性溶媒としてはDMP、THF等が用いられる。

反応は通常0℃~室温の範囲内で行われ、1時間~1日で終了する。

方法6 : -Y-X-の化合物(I-6)の合成

6-1 : -Y-X- が -O-C(CH₃)₂-O-CH₂- の化合物(I-6-1)



(式中、R¹、R²およびR³は前記と同様である)

化合物(I-1f)とチオカルボニルジイミダゾールとをDMP中適当な塩基、たとえばトリエチルアミンの存在下室温で1時間~1日反応させることにより化合物(I-6-2)を得ることができる。塩基は化合物(I-1f)に対し3当量、チオカルボニルジイミダゾールは5当量用いられる。

以上、方法1~6を適宜組合せて実施することにより所望の位置に所望の官能基を有する化合物(I)を得ることができる。

また化合物(I)は、ラクタム体(III)【化合物(IIa)、(IIb)および(IIc)を含む】

に先に前記方法2～6を適用し、次いで方法1に付することによっても得ることができる。

上記各方法において、反応終了後の生成物の単離、精製は通常の有機合成で用いられる方法、例えば抽出、結晶化、クロマトグラフィー等を適宜組み合わせて行うことができる。

化合物(1)はC-キナゼ阻害活性、抗ヒスタミン遊離抑制活性、血小板凝集抑制活性を有し、抗アレルギー剤、抗ヒスタミン剤、抗血栓剤等の活性成分として有用であると期待される。かかる医薬製剤は通常有効量の化合物(1)もしくはその薬理的に許容される塩および少なくとも1種の薬理的に許容される医薬組体を含有してなる。医薬製剤の投与量は投与方法、治療期間、年令、体重等によって異なるが、経口または非経口(例えば注射、塗布、吸入等)で人に對し1日あたり0.5～1.0mg/kgが適當である。製剤形態は錠剤、丸薬、粉末剤、顆粒剤、カプセル剤、坐剤、注射剤等を包含する。製剤化に際しては常用の医薬組体例えば乳糖、デキストロース、蔗糖、ソルビトール、マニトール、グルコース、シクロデキストリン、タルク、澱粉、メチルセルロース、ゼラチン、アラビアゴ

ム、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロビルセルロース、安息香酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、ステアリン酸アルミニウム、ステアリン酸マグネシウム、植物油、白色ワセリン、注射用蒸留水等が適宜選択して常法に用いられる。本製剤は組成物中化合物(1)またはその薬理的に許容される塩を0.01～8.5重量%含む。

さらに、化合物(1)は、ヒト子宮頸癌細胞HeLa(Hela)細胞、ヒト乳癌細胞MCF7、ヒト結腸癌細胞COLO320DM、ヒト肺分化型扁平上皮癌細胞PC-10等に対して顯著な細胞成長阻害活性を示し、從って化合物(1)を有効成分とする抗腫瘍剤が提供される。

化合物(1)を抗腫瘍剤として用いる場合には、各々の化合物を0.01～2.0mg/kgの投与量で、生理食塩水、ブドウ糖、ラクトース、マンニット注射液に溶解して注射剤として通常静脈内に投与する。また日本薬局方に基づいて凍結乾燥してもよいし、塩化ナトリウムを加えた粉末注射剤としてもよい。さらに医薬品的用途を満たした塩類のような、よく知られた薬学的に許容されている希釈剤、補助剤および/また

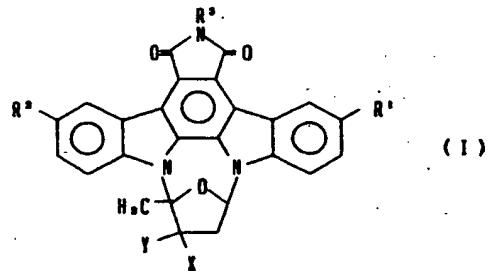
は組体を含んでいてもよい。注射剤として使用する場合には溶解度を高めるための助剤を併用するのが好ましい場合がある。投与量は年齢や症状により適宜増減できる。投与スケジュールも症状や投与量によって変えることができるが、たとえば1日1回(単回投与または連日投与)、週1～3回あるいは3週間に1回などの間歇投与がある。また同様の投与量、投与方法で経口投与、直腸投与も可能である。経口投与に際しては適当な補助剤と共に、錠剤、粉剤、粒剤、シロップ剤、坐剤等として投与できる。

実施例

次に上記製法によって得られる化合物(1)の代表例を第1表に、その中間体を第2表に示す。またこれらの化合物の製造例を実施例に、その中間体の製造例を参考例に、代表的化合物(1)の薬理活性を実験例に、代表的化合物(1)の製剤例を参考例に示す。

表中および実施例中BzL、Me、Et、Pr、Bu、hex、AcおよびCbzはそれぞれベンジル、メチル、エチル、プロビル、ブチル、ヘキシル、アセチルおよびベンジルオキシカルボニルを意味する。

第 1 表



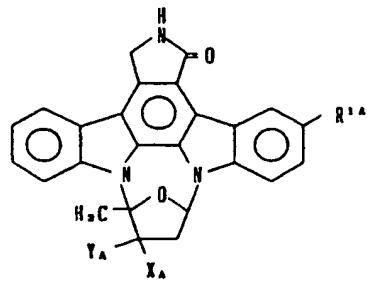
化合物 実施例

No.	No.	R¹	R²	R³	X	Y	塩
1	1	H	H	H	CO ₂ Me	OH	
2	2	H	H	H	CO ₂ Bt	OH	
3	3	H	H	H	CO ₂ nPr	OH	
4	4	H	H	H	CO ₂ nBu	OH	
5	5	H	H	H	CO ₂ nhex	OH	
6	6	H	H	H	CONHMe	OH	
7	7	H	H	H	CH ₂ OH	OH	
8	8	H	H	BzL	CO ₂ Me	OH	
9	8	H	H	BzL	CO ₂ Me	OBzL	
10	9	H	H	Me	CO ₂ Me	OH	
11	9	H	H	Me	CO ₂ Me	OMe	
12	10	H	H	n-Pr	CO ₂ Me	OH	

化合物 実施例

No.	No.	R ¹	R ²	R ³	X	Y	塩
13	11	Br	Br	H	CO ₂ Me	OH	
14	12	H	H	H	-CH ₂ OC(CH ₃) ₂ O-		
15	13	H	H	H	-CH ₂ OC(=S)-O-		
16	14	NO ₂	H	H	CO ₂ Me	OH	
17	15	H	H	OH	CH ₂ OH	OH	
18	16	H	H	N=CH-NMe ₂	CH ₂ OH	OH	
19	17	H	H	CH ₂ OH	CH ₂ OH	OH	
20	18	H	H	CH ₂ N-Me	CH ₂ OH	OH	
21	19	H	H	CH ₂ CH ₂ NMe ₂	CH ₂ NH ₂	OH	
22	20	H	H	H	CH ₂ NHCOCH ₂ NH ₂	OH	
23	21	H	H	NH ₂	CH ₂ NHCOCH ₂ NH ₂	OH	HCl

第 2 表



化合物 No.	参考例 No.	R ¹⁴	X _A	Y _A
	a	H	CO ₂ H	OH
	b	NO ₂	CO ₂ Me	OH
	c	H	-CH ₂ OC(CH ₃) ₂ O-	
	d	H	CO ₂ H	OAc
	e	H	CONHMe	OH
	f	H	CO ₂ Bt	OH
	g	H	-CH ₂ OC-O- OCH ₃	
	h	H	CH ₂ NHCbz	OH
	i	H	CH ₂ NHCOCH ₂ NHCbz	OR

実施例 1

ピリジン 5.0 mL に氷冷下クロム酸 3 g (3.0 mmol) を加え、ついで 10 分後 K-252, 2.9 g (6.2 mmol) のピリジン溶液 3.0 mL を加え、室温下 1 日攪拌した。反応混合物をセライトを過しろ過し、ろ液に THF を加え飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム) により精製し、クロロホルムより再結晶を行ない化合物 1, 2.53 g (8.5%) を mp. 288~290°C 黄色粉末として得た。

NMR (CDCl₃, +DMSO-d₆) δ : 2.18 (s, 3H), 2.38 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 3.37 (dd, 1H, J=6, 14Hz), 4.00 (s, 3H), 6.05 (br, s, 1H), 6.95 (dd, 1H, J=5, 6Hz), 7.20-8.04 (m, 6H), 9.08 (d, 1H, J=8Hz), 9.28 (d, 1H, J=8Hz), 10.16 (s, 1H)

MS (m/e) : 481 (M⁺)

実施例 2

実施例 1 と同様の方法で、参考例 6 で得られる化合物 f (K-252 エチルエステル体) 5.0 mg (0.1 mmol) より化合物 2, 3.0 mg (6.0.6%) を mp. > 300°C の黄色粉末として得た。

NMR (CDCl₃, +DMSO-d₆) δ : 1.51 (t, 3H, J=8Hz), 2.22 (s, 3H), 2.37 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 3.35 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 4.53 (q, 2H, J=8Hz), 5.61 (s, 1H), 6.93 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 7.28-7.70 (m, 5H), 7.98 (d, 1H, J=8Hz), 9.16 (d, 1H, J=8Hz), 9.36 (d, 1H, J=8Hz), 9.66 (br, s, 1H)

MS (m/e) : 495 (M⁺)

実施例 3

実施例 1 と同様の方法で、n-ブロパノールを用い参考例 6 と同様の方法で得られる K-252 n-プロピルエステル体 7.0 mg (0.14 mmol) より化合物 3, 5.0 mg (7.0.2%) を mp. 272~274°C の黄色プリズム晶として得た。

NMR (CDCl₃) δ : 1.12 (t, 3H, J=8Hz), 1.76-2.08 (m, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.37 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 3.32 (dd, 1H, J=8, 14Hz), 3.92 (s, 1H), 4.45 (t, 2H, J=7Hz), 6.88 (dd, 1H, J=5, 8Hz), 7.32-7.68 (m, 6H), 7.80 (d, 1H, J=8Hz), 9.08 (d, 1H, J=8Hz), 9.20 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 509 (M⁺)

実施例 4

実施例 1 と同様の方法で、n-ブタノールを用い参考例 6 と同様の方法で得られる K-252 n

一ブチルエステル体 7.0 mg (0.13 mmol) より、化合物 4. 5.0 mg (7.0 %) を mp. 2.51 ~ 2.53 ℃ の黄色プリズム晶として得た。

NMR (CDCl₃ + DMSO-d₆) δ : 1.04 (t, 3H, J=7Hz), 1.32-2.04 (m, 4H), 2.20 (s, 3H), 2.39 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 3.35 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 4.46 (t, 2H, J=7Hz), 5.34 (s, 1H), 6.91 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 7.30-7.70 (m, 5H), 7.96 (d, 1H, J=8Hz), 9.16 (d, 1H, J=8Hz), 9.24 (s, 1H), 9.36 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 523 (M⁺)

実施例 5

実施例 1 と同様の方法で、n-ヘキサンールを用い参考例 6 と同様の方法で得られる K-252 n-ヘキシリエステル体 7.0 mg (0.14 mmol) より、化合物 5. 4.8 mg (6.7 %) を mp. 2.28 ~ 2.29 ℃ の黄色プリズム晶として得た。

NMR (CDCl₃) δ : 0.96 (m, 3H), 1.16-1.72 (m, 6H), 1.76-2.08 (m, 2H), 2.24 (s, 3H), 2.41 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 3.35 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 3.96 (s, 1H), 4.51 (t, 2H, J=7Hz), 6.89 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 7.28-7.92 (m, 7H), 9.10 (d, 1H, J=8Hz), 9.24 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 551 (M⁺)

2.16 (s, 3H), 2.73 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 3.08 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 4.05 (s, 2H), 4.44 (d, 1H, J=17Hz), 4.86 (d, 1H, J=17Hz), 5.58 (s, 1H), 6.56 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 7.00-7.64 (m, 5H), 7.88 (d, 1H, J=8Hz), 7.96 (d, 1H, J=8Hz), 8.00 (s, 1H), 8.90 (d, 1H, J=8Hz)

実施例 1 と同様の方法で、モノ t-ブチルジメチルシリル体 2.20 mg (0.33 mmol) よりイミド体 (化合物 (I) : R' = R'' = R''' = H, X = CH₂OSi (Me)₂-Bu, Y = OH) 1.40 mg (7.5 %) を黄色粉末として得た。

NMR (CDCl₃ + DMSO-d₆) δ : 0.24 (s, 6H), 1.06 (s, 9H), 2.24 (s, 3H), 2.12-2.44 (m, 1H), 2.92-3.24 (m, 1H), 3.93 (d, 1H, J=10Hz), 4.08 (d, 1H, J=10Hz), 5.38 (s, 1H), 6.74 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 7.24-7.68 (m, 5H), 7.97 (d, 1H, J=8Hz), 9.14 (d, 1H, J=8Hz), 9.32 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 587 (M⁺)

イミド体 8.0 mg (0.14 mmol) を THF 5 mL に溶解し、テトラ-n-ブチルアンモニウムフルオライドの THF 溶液 (1M 濃度) 1 mL を加え室温下攪拌した。1 時間後、3 N 塩酸水溶液を加え酸性とし、飽和食塩水溶液で洗浄後無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、残

実施例 6

実施例 1 と同様の方法で、参考例 5 で得られる化合物 e. 5.0 mg (0.1 mmol) より、化合物 6. 3.3 mg (6.4 %) を mp. 2.95 ~ 2.96 ℃ の黄色粉末として得た。

NMR (DMSO-d₆) δ : 2.03-2.28 (m, 1H), 2.13 (s, 3H), 2.86 (d, 3H, J=3Hz), 3.35 (dd, 1H, J=6, 13Hz), 7.00-7.20 (m, 1H), 7.32-8.52 (m, 7H), 9.04 (d, 1H, J=8Hz), 9.23 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 480 (M⁺)

実施例 7

化合物 (II b) (参考例 1 で得られる化合物 a) 1.76 mg (0.4 mmol) を DMF 5 mL に溶解し、イミダゾール 1.36 mg (2.0 mmol) および t-ブチルジメチルシリルクロライド 1.81 mg (1.2 mmol) を加え室温下攪拌した。1 日後、クロロホルム 2.0 mL を加え、5 % クエン酸水溶液、飽和重そう水溶液、飽和食塩水溶液で順次洗浄後無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、モノ t-ブチルジメチルシリル体 (化合物 (II) : X⁰ = CH₂OSi (Me)₂-Bu) 2.40 mg (10.0 %) を淡黄色アモルファスとして得た。

NMR (CDCl₃) δ : 0.26 (s, 6H), 1.04 (s, 9H),

液をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (2 % メタノール/クロロホルム) にて精製し、化合物 7. 7.5 mg (10.0 %) を mp. 2.78 ~ 2.80 ℃ の黄色粉末として得た。

NMR (CDCl₃ + DMSO-d₆) δ : 2.13 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 2.18 (s, 3H), 3.00-3.38 (m, 1H), 3.76-4.04 (m, 2H), 6.76-7.00 (m, 1H), 7.20-7.84 (m, 5H), 8.01 (d, 1H, J=8Hz), 9.12 (d, 1H, J=8Hz), 9.30 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 453

実施例 8

化合物 1. 9.6 mg (0.2 mmol) を DMF 1 mL に溶解し、氷冷下 5.0 % 水素化ナトリウム 9.6 mg (0.2 mmol) を加え 2.0 分攪拌した。ついでベンジルプロマイド 0.024 mL (0.2 mmol) を加え氷冷下 3.0 分攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液 2 mL、クロロホルム 1.0 mL を加え有機層を分取し、飽和食塩水で洗浄後無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (2.5 % 酢酸エチル/n-ヘキサン) にて精製しメタノール-クロロホルムで再結晶して化合物 8. 3.5 mg (30.6 %) を mp. > 300 ℃ の黄色プリズム晶として得た。また化合物 9. 18 mg (13.6 %) を mp. 1.40

~147℃の黄色プリズム品として得た。

化合物8: NMR (CDCl₃) δ : 2.23 (s, 3H), 2.43 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 3.36 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 3.84 (s, 1H), 4.13 (s, 3H), 4.82 (s, 2H), 6.90 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 7.24-7.76 (m, 5H), 7.88 (d, 1H, J=8Hz), 9.17 (d, 1H, J=8Hz), 9.46 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 571 (M⁺)

化合物9: NMR (CDCl₃) δ : 2.48 (s, 3H), 2.49 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 3.47 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 4.06 (s, 3H), 4.18 (d, 1H, J=11Hz), 4.59 (d, 1H, J=11Hz), 5.04 (s, 2H), 6.64-8.00 (m, 16H), 9.24 (d, 1H, J=8Hz), 9.36-9.50 (m, 1H)

MS (m/e) : 861 (M⁺)

実施例9

実施例8と同様の方法で、化合物1, 9.6mg (0.2mmol) より化合物10, 6.0mg (8.0%) をmp. 267~269℃の黄色プリズム品として得た。また、化合物11, 2.5mg (24.5%) をmp. 288~294℃の黄色プリズム品として得た。

化合物10: NMR (CDCl₃) δ : 2.41 (s, 3H), 2.52 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 2.98 (s, 3H), 3.40 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 4.12 (s, 3H), 6.87 (dd, 1H, J=5, 7Hz),

7.28-7.68 (m, 5H), 7.84 (d, 1H, J=8Hz), 9.05 (d, 1H, J=8Hz), 9.34 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 495 (M⁺)

化合物11: NMR (CDCl₃) δ : 2.40 (s, 3H), 2.49 (dd, 1H, J=6, 14Hz), 3.16 (s, 3H), 3.24 (s, 3H), 3.42 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 4.04 (s, 3H), 6.97 (dd, 1H, J=8, 7Hz), 7.32-7.68 (m, 5H), 7.90 (d, 1H, J=8Hz), 9.18 (d, 1H, J=8Hz), 9.36 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 509 (M⁺)

実施例10

実施例8と同様の方法で、化合物1, 9.6mg (0.2mmol) より化合物12, 8.4mg (8.0.3%) をmp. 204~207℃の黄色プリズム品として得た。

NMR (CDCl₃) δ : 1.0 (t, 3H, J=8Hz), 1.60-1.96 (m, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.38 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 3.37 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 3.70 (t, 2H, J=7Hz), 4.12 (s, 3H), 6.92 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 7.36-7.72 (m, 5H), 7.84 (d, 1H, J=8Hz), 9.21 (d, 1H, J=8Hz), 9.44 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 523 (M⁺)

実施例11

化合物1, 9.6mg (0.2mmol) をピリジン 1mL

に溶解し、臭素 0.02mL (0.4mmol) を加え室温下3時間攪拌した。THF 10mLを加え、10%チオ硫酸ナトリウム、飽和食塩水溶液で順次洗浄し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去後、残渣をピリジン-THF-クロロホルムで再結晶し、化合物13, 1.00mg (78.2%) をmp. >300℃の黄色粉末として得た。

NMR (CDCl₃-DMSO-d₆) δ : 2.04-2.32 (m, 1H), 2.17 (s, 3H), 3.44 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 3.98 (s, 3H), 6.48 (s, 1H), 7.15 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 7.59-8.04 (m, 4H), 9.20 (s, 1H), 9.44 (s, 1H)

MS (m/e) : 639 (M⁺)

実施例12

実施例1と同様の方法で、参考例3で得られる化合物c, 550mg (1.15mmol) より、化合物14, 424mg (7.5%) をmp. 175~180℃の黄色粉末として得た。

NMR (CDCl₃) δ : 1.26 (s, 3H), 1.47 (s, 3H), 2.36 (s, 3H), 2.34 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 2.99 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 4.37 (d, 1H, J=10Hz), 4.60 (d, 1H, J=10Hz), 6.77 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 7.32-7.92 (m, 6H), 9.17 (d, 1H, J=8Hz), 9.36 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 493 (M⁺)

実施例13

化合物7, 5.8mg (0.12mmol) をDMP 3mL に溶解しトリエチルアミン 0.6mL (0.38mmol) およびチオカルボニルイミダゾール 1.07mg (0.6mmol) を加え、室温下1日攪拌した。反応溶液にTHFを加え、飽和食塩水溶液で洗浄し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。残渣をクロロホルムでトリチュレートし、化合物15, 2.0mg (33.7%) をmp. 260~273℃の黄色粉末として得た。

NMR (CDCl₃-DMSO-d₆) δ : 2.43 (s, 3H), 2.77 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 3.54 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 5.09 (d, 1H, J=10Hz), 5.43 (d, 1H, J=10Hz), 7.21 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 7.30-7.90 (m, 6H), 9.12 (d, 1H, J=8Hz), 9.34 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 495 (M⁺)

実施例14

実施例1と同様の方法で、参考例2で得られる化合物b, 3.0mg (0.058mmol) より、化合物16, 1.0mg (32.5%) をmp. >300℃の黄色粉末として得た。

NMR (CDCl₃-DMSO-d₆) δ : 2.24 (s, 3H), 2.44 (dd, 1H, J=5, 13Hz), 3.49 (dd, 1H, J=7, 13Hz), 4.08

(s, 3H), 6.27(s, 1H), 7.06(dd, 1H, J=5, 7Hz), 7.32-7.88(m, 3H), 8.06(d, 1H, J=8Hz), 8.40(dd, 1H, J=2, 8Hz), 9.30(d, 1H, J=8Hz), 9.80(d, 1H, J=2Hz), 10.57(s, 1H)

MS(m/e) : 527 (M+1)*

実施例 15

化合物 14 1.11 g (2.18 mmol) を THF 3.0 ml に溶解し、氷冷下水素化ナトリウム 1.30 g (3.27 mmol) を加え、次いで 10 分後、クロロギ酸エチル 0.44 ml (4.36 mmol) を加え、室温下一夜攪拌した。反応溶液に飽和塩化アンモニア水溶液を加え、ついで飽和食塩水で洗浄し無水硫酸マグネシウムで乾燥後溶液を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム) で精製し、N-エトキシカルボニル体 [化合物 (I) ; R¹=R²=H, R³=CO₂Et, X=CH₂OAc, Y=OH] 88.5 mg (70%) を得た。

NMR (DMSO-d₆) δ : 1.40(t, 3H, J=7Hz), 2.18 (s, 3H), 2.21(s, 3H), 2.00-2.36(m, 1H), 3.00-3.44(m, 1H), 4.24-4.60(m, 4H), 5.90(s, 1H), 7.10(m, 1H), 7.28-8.16(m, 6H), 8.98(d, 1H, J=8Hz), 9.19(d, 1H, J=8Hz)

8.12(m, 6H), 9.02(d, 1H, J=8Hz), 9.20(d, 1H, J=8Hz)

MS(m/e) : 470 (M+1)*

実施例 16

参考例 7 で得られる化合物 g、15.0 mg (0.3 mmol) より実施例 1 と同様の方法でイミド体 [化合物 (I) ; R¹=R²=R³=H, X-Y=O_{Me}-CH₂O-C(Me)-O-] 12.4 mg (81%) を得た。

NMR (CDCl₃, DMSO-d₆) δ : 1.46 および 1.58 (s, 3H), 2.20-3.20(m, 2H), 2.32 および 2.38(s, 3H), 3.11 および 3.38(s, 3H), 4.04-4.72(m, 2H), 6.60-6.84 (m, 1H), 7.20-8.12(m, 7H), 9.04-9.38(m, 2H)

MS(m/e) : 510 (M+1)*

イミド体 3.20 mg (0.83 mmol) をクロロホルム 2.0 ml およびメタノール 2.5 ml に溶解し、3 N 塩酸 1 ml を加え、室温下 1 時間攪拌した。反応溶液を飽和重曹水、飽和食塩水で洗浄した後、クロロホルム層に 2 N 水酸化ナトリウム 1.5 ml、メタノール 1.0 ml を加え、室温下 1 時間攪拌した。反応溶液を 5% クエン酸水、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶液を減圧下留去しジアルコール体 [化合物 (I) ; R¹=R²=R³=H, X=CH₂OH, Y=OH] 320

MS(m/e) : 568 (M+1)*

上記、N-エトキシカルボニル体 83.5 mg

(1.44 mmol) を DMF 5.0 ml に溶解し、氷冷下ヒドロキシルアミン塩酸塩 1.00 g (1.44 mmol) およびトリエチルアミン 2.01 ml (1.44 mmol) を加え、室温下 3 日間攪拌した。溶液を減圧下留去後、残渣に THF 5.0 ml を加え飽和食塩水で洗浄し無水硫酸マグネシウムで乾燥後溶液を減圧下留去し N-ヒドロキシ体 [化合物 (I) ; R¹=R²=H, R³=OH, X=CH₂OAc, Y=OH] を得た。

N-ヒドロキシ体は精製することなく、THF 3.0 ml およびメタノール 1.0 ml の混合溶液に溶解し、2 N 水酸化ナトリウム水溶液 2.16 ml を加え室温下 1 時間攪拌した。反応溶液を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶液を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (7% メタノール-クロロホルム) で精製し、化合物 17、11.2 mg (17%) を得た。

NMR (DMSO-d₆) δ : 1.92-2.22(m, 1H), 2.16 (s, 3H), 3.08-3.40(m, 1H), 3.68-3.96(m, 2H), 5.18(br, s, 1H), 5.50(s, 1H), 7.04(m, 1H), 7.28-

mg を得た。

NMR (CDCl₃, DMSO-d₆) δ : 2.08-2.12(m, 1H), 2.20(s, 3H), 3.08-3.36(m, 1H), 3.80-4.00(m, 2H), 4.842(t, 1H, J=8Hz), 6.15(s, 1H), 6.83(m, 1H), 7.20-8.04(m, 6H), 9.08(d, 1H, J=8Hz), 9.26(d, 1H, J=8Hz), 10.68(br, s, 1H)

MS(m/e) : 454 (M+1)*

ジアルコール体 74.3 mg (1.64 mmol) をジオキサン 2.0 ml に溶解し、飽和ヒドrazin 3.97 ml を加え 100°C で 2 時間加熱した。溶液を減圧下留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (メタノール/クロロホルム = 1.0 : 9.0) にて精製し、N-アミノ体 [化合物 (I) ; R¹=R²=H, R³=NH₂, X=CH₂OH, Y=OH] 47.2 mg (62%) を mp. 245-260°C の黄色粉末として得た。

NMR (DMSO-d₆) δ : 2.19(dd, 1H, J=5, 14Hz), 2.16(s, 3H), 3.00-3.40(m, 3H), 3.80(br, s, 2H), 4.96(br, s, 1H), 5.44(br, s, 1H), 6.88-7.12(m, 1H), 7.24-8.20(m, 6H), 9.04(d, 1H, J=8Hz), 9.04(d, 1H, J=8Hz)

MS(m/e) : 469 (M+1)*

N-アミノ体 23.4 mg (0.5 mmol) を DMF

3 mlに溶解し、N,N-ジメチルホルムアミドジメチルアセタール0.56 ml (4.2 mmol) を加え室温下2週間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(メタノール/クロロホルム/アンモニア水=3/97/0.1)で精製し、化合物18 1.79 mg (6.8%)を得た。

NMR (DMSO-d₆) δ : 2.03 (dd, 1H, J=5.14Hz), 2.16 (s, 3H), 3.04 (s, 6H), 3.00-3.26 (m, 1H), 3.72-4.00 (m, 2H), 5.16 (t, 1H, J=6Hz), 5.48 (s, 1H), 7.04 (m, 1H), 7.28-7.72 (m, 4H), 7.90 (d, 1H, J=8Hz), 8.02 (d, 1H, J=8Hz), 8.09 (s, 1H), 9.03 (d, 1H, J=8Hz), 9.22 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 524 (M+1) *

実施例17

実施例16で得られるジアルコール体〔化合物(I) ; R¹=R²=R³=H, X=CH₂OH, Y=OH〕9.0 mg (0.2 mmol) をDMF 2 mlに溶解し、3.5%ホルムアルデヒド水溶液0.05 ml (0.6 mmol) を加え、70℃で2.5時間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(メタノール/クロロホルム/2.8%アンモニア水=3/97/0.1)で精製し、化合物20 4.4 mg (3.9%)を得た。

化合物19 3.0 mg (3.1%)を得た。

NMR (DMSO-d₆) δ : 2.07 (dd, 1H, J=5.14Hz), 2.20 (s, 3H), 3.12-3.40 (m, 1H), 3.68-4.04 (m, 2H), 5.00-5.30 (m, 3H), 5.52 (s, 1H), 6.40 (t, 1H, J=7Hz), 7.07 (dd, 1H, J=5.7Hz), 7.30-7.80 (m, 4H), 7.92 (d, 1H, J=8Hz), 8.07 (d, 1H, J=8Hz), 9.08 (d, 1H, J=8Hz), 9.28 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 484 (M+1) *

実施例18

実施例16で得られるジアルコール体〔化合物(I) ; R¹=R²=R³=H, X=CH₂OH, Y=OH〕9.0 mg (0.2 mmol) をDMF 2 mlに溶解し、3.5%ホルムアルデヒド水溶液0.05 ml (0.6 mmol) およびN-メチルビペラジン0.07 ml (0.6 mmol) を加え、70℃で2日間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、残渣をTHF 1.0 mlを加え総和重曹水、飽和食塩水で順次洗浄し無水硫酸マグネシウムで乾燥後溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(メタノール/クロロホルム/2.8%アンモニア水=3/97/0.1)で精製し、化合物20 4.4 mg (3.9%)を得た。

NMR (DMSO-d₆) δ : 1.88-2.80 (m, 9H), 2.14 (s,

3H), 2.20 (s, 3H), 3.08-3.48 (m, 1H), 3.72-4.08 (m, 2H), 4.64 (s, 2H), 5.18 (m, 1H), 5.48 (s, 1H), 7.08 (m, 1H), 7.30-7.76 (m, 4H), 7.92 (d, 1H, J=8Hz), 8.05 (d, 1H, J=8Hz), 9.05 (d, 1H, J=8Hz), 9.24 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 566 (M+1) *

実施例19

実施例1と同様の方法で、参考例8で得られる化合物b 2.62 mg (0.45 mmol) より、イミド体〔化合物(I) ; R¹=R²=R³=H, X=CH₂NHCbz, Y=OH〕1.70 mg (6.45%)をmp. 281-285℃の黄色粉末として得た。

NMR (CDCl₃-DMSO-d₆) δ : 2.00-2.30 (m, 1H), 2.18 (s, 3H), 3.05 (dd, 1H, J=7.14Hz), 3.48-3.90 (m, 2H), 5.20 (s, 2H), 5.69 (s, 1H), 6.68-7.00 (m, 1H), 7.08-7.70 (m, 10H), 8.01 (d, 1H, J=7Hz), 9.08 (d, 1H, J=8Hz), 9.27 (d, 1H, J=7Hz)

MS (m/e) : 587 (M+1) *

イミド体 2.60 mg (0.45 mmol) をDMP 1.0 mlに溶解し、-20℃にて60%水素化ナトリウム4.4 mg (1.08 mmol) を加え、10分後に1,2-ジプロモエタン4 ml (4.5 mmol) を加え、

同温度にて1時間攪拌した。反応溶液に飽和塩化アンモニア水溶液およびクロロホルムを加え、有機層を分取し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム)にて精製し、N-プロモエチル体〔化合物(I) R¹=R²=H, R³=CH₂CH₂Br, X=CH₂NHCbz, Y=OH〕2.30 mg (7.4%)を得た。

NMR (CDCl₃) δ : 2.08 (s, 3H), 2.40-2.68 (s, 1H), 3.00-4.00 (m, 7H), 5.20 (s, 2H), 5.32-5.60 (m, 1H), 6.40-6.64 (m, 1H), 7.00-7.64 (m, 10H), 7.84 (d, 1H, J=8Hz), 8.66 (d, 1H, J=8Hz), 9.20 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 679 (M+1) *

N-プロモエチル体 2.10 mg (0.3 mmol) をDMF 8 mlに溶解し、ジメチルアミン塩酸塩2.43 mg (3 mmol) およびDBU 0.45 mlを加え、室温下1日攪拌した。溶媒を減圧下留去し残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(メタノール/クロロホルム/2.8%アンモニア水=5/95/0.1)にて精製し、N-ジメチルアミノエチル体〔化合物(I) ; R¹=R²=H, R³=CH₂CH₂NMe₂, X=CH₂NHCbz, Y=OH〕2.00 mg (6.45%)を得た。

Y=OH] 190 mg (9.6%)を得た。

NMR (CDCl₃) δ : 2.06 (s, 3H), 2.14 (s, 6H), 1.96-3.96 (m, 9H), 5.19 (s, 2H), 5.80 (m, 1H), 6.51 (m, 1H), 6.84-7.64 (m, 10H), 7.84 (d, 1H, J=8Hz), 8.52 (d, 1H, J=8Hz), 9.26 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 658 (M+1) *

N-ジメチルアミノエチル体 190 mg (0.29 mmol) を DMP 5 ml に溶解し、10%パラジウム/炭素 200 mg を加え、水素気流下 50~60 ℃で2時間攪拌した。反応溶液をセライトを通し沪過し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (メタノール/クロロホルム/28%アンモニア水 = 10/90/0.5) にて精製し、化合物 21 122 mg (81%)を得た。

NMR (DMSO-d₆) δ : 1.84-3.98 (m, 11H), 2.12 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 7.03 (m, 1H), 7.28-7.72 (m, 4H), 7.84 (d, 1H, J=8Hz), 8.00 (d, 1H, J=8Hz), 9.00 (d, 1H, J=8Hz), 9.20 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 524 (M+1) *

実施例 2 0

実施例 1 と同様の方法で、参考例 9 で得られる化合物 i 629 mg (1 mmol) より、イミド体

[化合物 (I) : R¹=R²=R³=H]

X=CH₂NHCOCH₂NHCOCH₂, Y=OH] 480 mg (7.3%)を得た。

NMR (DMSO-d₆) δ : 1.92-2.36 (m, 1H), 2.19 (s, 3H), 2.80-3.16 (m, 1H), 3.52-4.00 (m, 4H), 5.10 (s, 2H), 5.77 (s, 1H), 6.96 (m, 1H), 7.12-8.24 (m, 12H), 8.98 (d, 1H, J=8Hz), 9.18 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 645 (M+2) *

イミド体 400 mg (0.63 mmol) を実施例 1 9 と同様の方法で還元を行い、化合物 22 320 mg (100%)を得た。

NMR (DMSO-d₆) δ : 1.92-2.28 (m, 1H), 2.16 (s, 3H), 2.80-3.90 (m, 7H), 5.84 (br, s, 1H), 6.96 (m, 1H), 7.24-8.40 (m, 7H), 8.97 (d, 1H, J=8Hz), 9.16 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 510 (M+1) *

実施例 2 1

実施例 2 0 で得られる化合物 22 277 mg (0.54 mmol) をジオキサン 1.5 ml に溶解し、抱水ヒドライジン 1.3 ml を加え3時間加熱還流した。溶媒を減圧下留去後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (メタノール/クロロホルム/28%アンモニア水 = 5/95/0.1) にて精製

4.13 (d, 1H, J=11Hz), 3.91 (d, 1H, J=11Hz), 3.29 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 2.38 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 2.19 (s, 3H)
MS (m/e) : 440 (M+1) *

参考例 2

K-252. 7.01 g (1.5 mmol) の無水 THF (100 ml) 溶液を水冷し、これに水素化リチウムアルミニウム 1.14 g (3.0 mmol) を加え、室温で2時間攪拌した。メタノールを加えて過剰の還元剤を分解した後、反応混合物をセライトを通しろ過した。ろ液を1N 塩酸、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下に除去した残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) で精製して、淡黄色粉末状の化合物 a 5.34 g (81%)を得た。

NMR (DMSO-d₆) δ : 2.12 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 2.16 (s, 3H), 3.45 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 3.94 (s, 3H), 4.99 (d, 1H, 18Hz), 5.06 (d, 1H, 18Hz), 6.44 (s, 1H), 7.26 (dd, 1H, J=5, 7, 4Hz), 7.39 (t, 1H, J=8Hz), 7.53 (t, 1H, 7Hz), 7.96 (d, 1H, 8Hz), 8.08 (t, 2H, J=8Hz), 8.31 (dd, 1H, J=2, 4, 7Hz), 8.77 (s, 1H), 10.09 (d, 1H, J=2Hz)

MS (m/e) : 512 (M+)

参考例 3

化合物 a 8.7 mg (0.2 mmol) をクロロホルム 5 ml に溶解し、2,2-ジメトキシプロパン 1.04

し、1.7N 塩酸/酢酸エチルで塩酸塩とし、化合物 23 140 mg (50%)を得た。

NMR (DMSO-d₆) δ : 2.04-2.32 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.96-3.96 (m, 7H), 5.88 (m, 1H), 7.03 (m, 1H), 7.28-8.40 (m, 8H), 8.76 (m, 1H), 9.04 (d, 1H, J=8Hz), 9.24 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 525 (M+1) *

参考例 1

K-252. 7.01 g (1.5 mmol) の無水 THF (100 ml) 溶液を水冷し、これに水素化リチウムアルミニウム 1.14 g (3.0 mmol) を加え、室温で2時間攪拌した。メタノールを加えて過剰の還元剤を分解した後、反応混合物をセライトを通しろ過した。ろ液を1N 塩酸、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下に除去した残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) で精製して、淡黄色粉末状の化合物 a 5.34 g (81%)を得た。

mp. 266~275 ℃ (メタノールより再結晶)

NMR (DMSO-d₆+CDCl₃) δ : 9.24 (d, 1H, J=8Hz), 8.2-7.7 (m, 3H), 7.6-7.0 (m, 4H), 6.74 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 4.90 (d, 1H, J=18Hz), 4.69 (d, 1H, J=18Hz),

mg (1 mmol) およびカンファースルホン酸 1.0 mg を加え、2時間加熱還流した。反応溶液を飽和重曹水溶液、飽和食塩水溶液で順次洗浄し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (1%メタノール/クロロホルム) にて精製し、化合物 c 8.8 mg (71.5%) を mp. 278~280°C の黄褐色粉末として得た。

NMR (CDCl₃) δ : 1.14 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.41 (dd, 1H, J=5.14Hz), 2.82 (dd, 1H, J=5.14Hz), 4.05 (d, 1H, J=10Hz), 4.49 (d, 1H, J=10Hz), 4.96 (s, 2H), 6.68 (dd, 1H, J=5.7Hz), 7.24-8.20 (m, 7H), 9.40-9.60 (m, 1H)
MS (m/e) : 479 (M⁺)

参考例 4

化合物 (II a) 4.53 g (10 mmol) の無水ビリジン 5.0 mL 溶液に、無水酢酸 1.42 mL (15 mmol) を加え、室温で1時間攪拌した。反応混合物中の溶媒を減圧下に留去し、残渣に1N塩酸 5.0 mL を加え攪拌した。不溶物をろ取し、1N 塩酸、ついで水で洗浄した。減圧下に乾燥して、淡黄色粉末状の化合物 d 4.79 g (97%) を得た。

を得た。

mp. 261~263°C (メタノール)
NMR (DMSO-d₆) δ : 9.22 (d, 1H, J=7.9Hz), 8.1-7.8 (m, 3H), 7.55-7.25 (m, 4H), 7.04 (dd, 1H, J=4.7, 7.5Hz), 5.04 (d, 1H, J=17.5Hz), 4.97 (d, 1H, J=17.5Hz), 3.26 (dd, 1H, J=7.5, 13.6Hz), 2.81 (d, 3H, J=4.7Hz), 2.12 (s, 3H), 2.04 (dd, 1H, J=4.7, 13.6Hz)
MS (m/e) : 466 (M⁺)

参考例 5

化合物 (II a) 2.27 mg (0.5 mmol) のエタノール 2.0 mL 驚済溶液に塩化チオニル 1 mL を加え、加熱還流した。2時間および4時間後さらに塩化チオニルを 1 mL ずつ加え、延べ8時間加熱還流した。反応混合物中の揮発性物質を減圧下に留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) により精製し、淡黄色粉末状の化合物 e 1.60 mg (66%) を得た。

mp. 193~195°C (アセトン-メタノール)
NMR (DMSO-d₆) δ : 9.22 (d, 1H, J=7.6Hz), 8.1-7.85 (m, 3H), 7.55-7.25 (m, 4H), 7.11 (dd, 1H, J=4.9, 7.3Hz), 5.04 (d, 1H, J=17.7Hz), 4.98 (d, 1H,

mp. 267~270°C

NMR (DMSO-d₆+CDCl₃) δ : 9.36 (d, 1H, J=8Hz), 8.2-7.7 (m, 3H), 7.7-7.25 (m, 4H), 7.27 (dd, 1H, J=5.7Hz), 5.07 (s, 2H), 3.98 (dd, 1H, J=7.14Hz)

参考例 5

化合物 d 2.5 g の塩化チオニル 8.0 mL 溶液を2時間加熱還流した。反応溶液中の塩化チオニルを減圧下に留去し、固体残渣にエチルエーテル 4.0 mL を加え攪拌した。不溶物をろ取し、エチルエーテルで洗浄後、減圧下に乾燥して、淡黄色粉末状のO-アセチル-酸クロリド 2.29 g (88%)を得た。

上記化合物 2.06 mg (0.4 mmol) の無水クロロホルム (五酸化リンで脱水) 5 mL 溶液に、3.0%メチルアミン/メタノール 0.5 mL を加え、室温で3時間攪拌した後、1N水酸化ナトリウム水溶液 1 mL およびメタノール 5 mL を加え、さらに1時間攪拌した。反応混合物にTHF 7.0 mL を加えて得られた溶液を1N塩酸、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下に留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) で精製して、淡黄色粉末状の化合物 e 1.09 mg (58%)

J=17.7Hz), 4.40 (m, 2H), 3.38 (dd, 1H, J=7.3, 13.9Hz), 2.17 (s, 3H), 2.02 (dd, 1H, J=4.9, 13.9Hz), 1.43 (t, 3H, J=7.1Hz)

MS (m/e) : 481 (M⁺)

参考例 6

化合物 (II b) 4.39 mg (1 mmol) をクロロホルム 3.10 mL に懸濁し、トリメトキシエタン 0.25 mL (2 mmol) およびカンファースルホン酸 2.3 mg を加え、10分間加熱還流した。反応液を飽和重曹水、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をクロロホルム-エーテルより粉末化し、化合物 f 3.80 mg (77%) を得た。

NMR (CDCl₃) δ : 1.40 および 1.52 (s, 3H), 2.12-3.52 (m, 2H), 2.29 および 2.32 (s, 3H), 3.05 および 3.36 (s, 3H), 4.04-4.68 (m, 2H), 5.02 (s, 2H), 6.44 (s, 1H), 6.73 (m, 1H), 7.20-8.12 (m, 7H), 9.34 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 496 (M⁺)

参考例 8

化合物 (II c) 4.38 mg (1 mmol) をTHF 2.0 mL および水 1.0 mL に溶解し、炭酸水素ナトリウム 4.20 mg (5 mmol) を加え、ついで氷冷下ベ

シジルオキシカルボニルクロライド 0.21 g

(1.5 mmol) を加え、同温度にて1時間攪拌した。反応液を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (2%メタノール/クロロホルム) にて精製し、化合物 h 2.82 g (49.3%) を *mp.* >300°C の淡黄色粉末として得た。

HNMR (DMSO-*d*₆) δ : 1.88-2.20 (m, 1H), 2.15 (s, 3H), 3.00 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 3.40-3.72 (m, 2H), 5.00 (br, s, 2H), 5.15 (s, 2H), 5.60 (s, 1H), 5.68-6.98 (m, 1H), 7.12-7.72 (m, 10H), 7.90-8.18 (m, 2H), 8.58 (s, 1H), 9.20 (d, 1H, J=8Hz)

MS (m/e) : 573 (M+1)*

参考例 9

化合物 (IIc) 1.31 g (0.3 mmol)、N-ペニジルオキシカルボニルグリシン 9.4 mg (0.45 mmol) および DCC 9.3 mg (0.45 mmol) を加え、一夜攪拌した。反応終了後、析出物を吸引沪過し、沪液を減圧下減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (2%メタノール/クロロホルム) にて精製後、化合物 I 1.56 g (83%) を *mp.* 157~162°C の淡黄色粉末

として得た。

HNMR (DMSO-*d*₆) δ : 1.96-2.30 (m, 1H), 2.19 (s, 3H), 2.58 (s, 1H), 2.72-3.08 (m, 1H), 3.60-3.88 (m, 4H), 5.00 (s, 2H), 5.11 (s, 2H), 5.72 (s, 1H), 6.86-8.20 (m, 13H), 8.58 (s, 1H), 9.20 (dd, 1H, J=2, 8Hz)

MS (m/e) : 630 (M+1)*

参考例 10 錠剤

10%ヒドロキシプロピルセルロース溶液を化合物 7, 1.00 g、乳糖 4.0 g、コーンスター 1.8 g およびカルボキシメチルセルロースカルシウム 1.0 g よりなる混合物に加え、練合する。練合物を 1.0 mm のスクリーンを有する押出造粒機で造粒し、60°C で乾燥する。乾燥造粒物を 1.6-メッシュの網で分けし、ステアリン酸マグネシウムを調合物に添加して錠剤用顆粒を調製する。ついで常法により 8 mm で 1 剤 (170 mg) あたり 1.00 g の化合物 7 を含む錠剤を得る。

実験例 1

本発明により得られた化合物の C-キナーゼ阻害活性を、Y. Nishizuka らの方法 [J. Biol. Chem., 257, 13341 (1982)] に準じて測定した。試験化合物の濃度を変え、阻害活性を 50% 阻害する化合物濃度 (IC₅₀) を求めた。結果を第 3 表に示す。

第 3 表 合成化合物の C-キナーゼ阻害活性

化合物	IC ₅₀ (μM)
1	0.0069
6	0.004
7	0.018
14	0.017
17	1.8
19	0.086
20	0.052
23	1.1
K-252c (参考化合物)	0.016

実験例 2

本発明により得られた化合物のヒスタミン遊離抑制作用を以下のようにして調べた。

体重 150~180 g のラットを乾エーテル麻酔下に放血致死せしめ、Sullivan らの方法 [J. Immunol., 114, 1473 (1975)] に準じて作製した肥満細胞用培養液 (mast cell medium) (MCM と略記、組成: 1.50 mM NaCl, 3.7 mM KCl, 3 mM Na₂HPO₄, 3.5 mM KH₂PO₄, 1 mM CaCl₂, 5.6 mM グルコース、0.1% 牛血清アルブミン、10 U/ml ヘパリン)、

6 μl/animal を腹腔内に注入した。腹部を 2 分間マッサージした後、開腹し腹腔内授出液を採取した。6 匹より集めた授出液を 4°C, 100 × g で 5 分間遠心分離後、沈渣に適量の氷冷 MCM を加えて 3 回洗浄し、最終的には肥満細胞数が約 3 × 10⁶ cells/ml となるように細胞浮遊液 (peritoneal exudate cells, PEC と略記) を調製した。なお、肥満細胞の同定は 0.05% トリイジンブルーで細胞内顆粒を染色することにより行った。このようにして得た PEC 1 ml を 37°C, 10 分間プレインキュベートした後、種々の濃度の被検薬液 0.1 ml を加えて 10 分間インキュベートし、フォスファチジル-L-セリン 100 μg/ml およびコンカナバリン A 1000 μg/ml それぞれ 0.1 ml を加えてさらに 15 分間インキュベートした。氷冷した生理食塩水 3 ml を加えて反応を停止後、4°C, 1100 × g で 10 分間遠心分離して上清と沈渣を得た。上清および沈渣のヒスタミン量は小松の方法 [アレルギー-27, 67 (1978)] に従い蛍光法で測定した。ヒスタミン遊離率は細胞の総ヒスタミン量に対する上清のヒスタミン量の百分率として表した。また次式により被検薬液のヒスタミン遊離抑制率を算出した。

避難抑制率(%)

$$= \left(1 - \frac{\text{薬物存在下のヒスタミン避難} - \text{自発避難}}{\text{薬物不存在下のヒスタミン避難} - \text{自発避難}} \right) \times 100$$

試験化合物の濃度を変え、ヒスタミン避難を50%抑制する化合物濃度(IC_{50})を求めた。結果を第4表に示す。

第4表 合成化合物のヒスタミン避難抑制作用

化合物番	IC_{50} ng/ml
6	10
7	10

実験例3

本発明により得られた化合物の細胞生育阻害活性について以下の方法によって試験し、結果を第5表に示す。

(1) MCF7細胞生育阻害試験：

96穴マイクロタイターブレードに、10%牛胎児血清100 μg/mlインシュリン 10^{-8} Mエストラジオールを含むRPMI 1640培地で 4.5×10^4 個/mlに調製したMCF7細胞を0.1 ml

(1)におけるウエル分注後と同様に行う。

(2) COLO320DM細胞生育阻害試験：

96穴マイクロタイターブレードに、10%牛胎児血清100 μg/mlベニシリン、100 μg/mlストレプトマイシンを含むRPMI 1640培地で 10^4 個/mlに調製したCOLO320DM細胞を0.1 mlずつ各ウエルに分注する。以下(1)と同様に行い、細胞の算出はミクロセルカウンターにより行う。無処理細胞と、既知濃度の薬剤で処理した細胞の細胞数を比較することにより細胞の増殖を50%阻害する薬物濃度を算出し、それを IC_{50} とする。

第5表 合成化合物の細胞生育阻害活性

化合物番号	IC_{50} (ng/ml)		
	MCF7	HeLaS ₂	COLO320DM
7		0.95	0.18
17	0.13	0.17	0.13
19	0.26	0.18	0.03
20	0.08	0.15	0.03
23	0.17	0.71	1.00
K-252 (参考化合物)	0.51	0.20	0.27

ずつ各ウエルに分注する。炭酸ガスインキュベーター内で一晩37℃下培養後培養液により適宜希釈した被験サンプルを0.05 mlずつ加える。72時間接触の場合には、このまま細胞を炭酸ガスインキュベーター内で細胞を培養後、培養上清を除去し、PBS(-)で一回洗浄後、新鮮な培地を0.1 mlずつ各ウエルに加え炭酸ガスインキュベーター内で37℃下、72時間培養する。培養上清を除去後、0.02%ニュートラルレッドを含む培養液を0.1 mlずつ各ウエルに加え37℃下、1時間炭酸ガスインキュベーター内で培養し細胞を染色する。培養上清を除去後、生理食塩水で1回洗浄し、0.001N塩酸/30%エタノールで色素を抽出後、マイクロプレートリーダーにより550 nmの吸収を測定する。無処理細胞と既知濃度の薬剤で処理した細胞の吸収を比較することにより、細胞の増殖を50%阻害する薬物濃度を算出し、それを IC_{50} とする。

(2) HeLaS₂細胞生育阻害試験：

96穴マイクロタイターブレードに、10%牛胎児血清2 mMグルタミンを含むMEM培地で 3×10^4 個/mlに調製したHeLaS₂細胞を0.1 mlずつ各ウエルに分注する。

発明の効果

化合物(1)およびその薬理的に許容される塩はC-キナーゼ阻害活性、抗ヒスタミン避難抑制活性、血小板凝集抑制活性、抗炎症活性および細胞生育阻害活性等を有し、抗アレルギー剤、抗血栓剤、抗炎症剤および抗腫瘍剤等の活性成分として有用であると期待される。

特許出願人 (102)協和醸業工業株式会社

代表者 加藤幹夫



第1頁の続き

(5) Int. Cl. 4
// A 61 K 31/55

識別記号

庁内整理番号

A B E
A B F
A C B(C 07 D 498/18
207:00
307:00
273:00)

⑦発明者 河 西 政 次	神奈川県藤沢市鶴沼松が岡3-12-15
⑦発明者 小 林 英 二	東京都足立区栗原2-11-21-706
⑦発明者 森 本 真	静岡県駿東郡長泉町下土狩203-5
⑦発明者 秋 永 士 朗	静岡県駿東郡長泉町下土狩1188

手 案 换 正 書 (自 発)

(2) 同書第6頁下から5行目「を有し抗アレルギー」を「を有した抗アレルギー」に訂正する。

昭和63年2月15日

特 許 庁 長 官 殿

1. 事件の表示

昭和62年特許第327859号

2. 発明の名称

生理活性物質K-252の誘導体

3. 换正をする者

事件との関係 特許出願人

郵便番号 100

住所 東京都千代田区大手町一丁目6番1号

名称 (102) 協和醣酵工業株式会社

(TEL: 03-282-0036)

代表者 加藤 韶夫

4. 换正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄

5. 换正の内容

方式
審査
吉田

(1) 明細書第6頁10行目「800

1981.2.6
63

「800(1978)」に訂正する。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

BLACK BORDERS

IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

FADED TEXT OR DRAWING

BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

SKEWED/SLANTED IMAGES

COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

GRAY SCALE DOCUMENTS

LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.